

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.  
12. Jg. 1974, S. 287–293

## Die Messung der Spurenelemente Chrom und Mangan im Serum mittels flammenloser Atomabsorption<sup>1)</sup>

Von B. Grafflage, G. Buttgerit, W. Kübler und H.-M. Mertens

Aus der 1. Medizinischen Klinik B (Direktor: Prof. Dr. F. Loogen) der Universität Düsseldorf und dem Organisch-Analytischen Laboratorium der Bayer AG, Leverkusen

(Eingegangen am 22. November 1973/19. Februar 1974)

Es wird eine einfache Methode zur Messung des Chrom- und Mangan-Gehaltes im menschlichen Serum mittels flammenloser Atomabsorption beschrieben.

Mögliche Fehlerquellen des Verfahrens werden aufgezeigt.

Bei 50 anscheinend gesunden Personen wird mit dieser Methode der Chrom- und Mangan-Gehalt im Serum bestimmt. Für beide Elemente fand sich eine log-normale Verteilung mit einem Median von 0,60 µg/l für Chrom (arithmetischer Mittelwert: 0,73 µg/l) und einem Median von 1,58 µg/l für Mangan (arithmetischer Mittelwert: 1,94 µg/l).

### *Determination of the trace elements chromium and manganese in serum by flameless atomic absorption*

A simple method is described for the measurement of the concentration of chromium and manganese in serum with the aid of flameless atomic absorption. Possible sources of error in the method are shown. Using this method, the concentrations of chromium and manganese were measured in the sera of 50 apparently healthy persons. Both elements showed a normal log distribution with a median of 0.60 µg/l for chromium (arithmetic average, 0.73 µg/l) and a median of 1.58 µg/l for manganese (arithmetic average, 1.94 µg/l).

Die physiologische und klinische Bedeutung von Spurenelementen ist noch weitgehend unbekannt. Dies ist vor allem auf methodische Schwierigkeiten zurückzuführen. Die bisher für die Bestimmung von Spurenelementen in biologischen Geweben angewendeten Verfahren sind für die Klinik entweder zu teuer und zu aufwendig – wie die Neutronenaktivierungsanalyse – oder sie weisen eine zu große methodische Fehlerbreite bei relativ geringer Nachweisgrenze auf; dies gilt sowohl für die Anwendung der Flammenatomabsorption oder der Emissionsspektalanalyse nach vorheriger Anreicherung der Elemente durch Komplexierung und Fällung bzw. Veraschung, als auch für die spektrometrischen, kolorimetrischen und fluorimetrischen Verfahren. Mit der flammenlosen Atomabsorptionsspektroskopie (1,2) wurde ein neues Verfahren entwickelt, das für die Messung von Spurenelementen in der Klinik geeignet erscheint. Diese Methode weist als Vorteil einen sehr einfachen und kurzen Analysengang bei relativ hoher Empfindlichkeit und Nachweisgrenze auf, so daß in wäßriger Lösung die Messung von Spurenelementen in den im Serum zu erwartenden Konzentrationen problemlos gelingt. Bei Verwendung von biologischem Material führen jedoch die in der Probe vorhandenen organischen und anorganischen Substanzen zu er-

heblichen Störeffekten, die sich in unspezifischen Signalen und in Veränderungen des spezifischen Signales äußern können.

Im folgenden soll eine Methode zur Messung von Chrom und Mangan im Serum des Menschen mittels flammenloser Atomabsorption beschrieben und begründet werden.

### Material und Methoden

#### Gewinnung der Serumproben

Das Blut wurde von gesunden Versuchspersonen durch Venenpunktion gewonnen. Um den Kontakt der Blutprobe mit einer Metallkanüle zu vermeiden, wurde eine Braunüle<sup>2)</sup> verwendet. Nach etwa einer Stunde wurde der Blutkuchen durch zehn Minuten langes Zentrifugieren bei 2.500g vom Serum getrennt. Um eine Adsorption der in geringer Menge im Serum vorliegenden Spurenelemente an Glaswände zu vermeiden, wurden bei der Gewinnung und Aufbereitung der Blutproben nur Plastikgefäße (Polypropylen) und Eppendorf-Pipetten<sup>3)</sup> (mit Plastikspitzen) verwendet.

#### Geräte

Die Messungen wurden zunächst mit einem Atomabsorptionsgerät ohne Deuteriumkompensator (290 AAS)<sup>4)</sup> in Kombination mit einer spannungsgesteuerten Graphitrohrküvette ohne Mög-

<sup>1)</sup> Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Rahmen des SFB 30 (Kardiologie) der Universität Düsseldorf durchgeführt.

<sup>2)</sup> Braunüle der Firma Braun, Melsungen

<sup>3)</sup> Eppendorf-Pipetten der Firma Eppendorf, Hamburg

<sup>4)</sup> Atomabsorptions-Gerät 290 der Bodenseewerke Perkin-Elmer, Überlingen

lichkeit der kontinuierlichen Aufheizung (HGA 70)<sup>5)</sup> durchgeführt.

Die weiteren Versuche wurden mit Atomabsorptionsgeräten mit Deuteriumkompensator vorgenommen, wobei vergleichend an einem Ein-Strahl-(300 S AAS)<sup>6)</sup> und an einem Zwei-Strahl-Gerät (403 AAS)<sup>7)</sup> gemessen wurde. Als Graphitrohrküvette wurde zusätzlich zur HGA 70<sup>5)</sup> ein stromgesteuertes Gerät mit Temperaturprogramm (HGA 72)<sup>8)</sup> verwendet.

Die Auswertung der registrierten Kurven erfolgt von der Basislinie bei Beginn der Atomisierung bis zum Maximalwert. Die mit diesem linearen Auswertverfahren ermittelten Ergebnisse stimmen mit den bei integraler Auswertung gemessenen Werten gut überein und zeigen keine systematische Abweichung (2)<sup>9)</sup>.

#### Chemikalien

Die verwendeten Chemikalien wurden alle von der Firma Merck, Darmstadt bezogen. Sie wiesen die Reinheitsgrade „Suprapur“ oder „pro analysi“ auf (siehe Ergebnisse).

- 5) Graphitrohrküvette HGA 70 der Bodenseewerke Perkin-Elmer  
6) Atomabsorptions-Gerät 300 S der Bodenseewerke Perkin-Elmer  
7) Atomabsorptions-Gerät 403 der Bodenseewerke Perkin-Elmer  
8) Graphitrohrküvette HGA 72 der Bodenseewerke Perkin-Elmer  
9) unveröffentlichte Berichte

#### Ergebnisse

##### Verwendung des Gerätes 290 AAS in Kombination mit der Graphitrohrküvette HGA 70

Bei Verwendung dieser Gerätekombination ergab die Messung von Chrom im Serum nach den ursprünglich von der Herstellerfirma empfohlenen Verfahren keine reproduzierbaren Werte (siehe Tab. 1, Versuchsansatz 1). Da mit dieser Methode auch unspezifische Rauchsignale erfaßt wurden, lagen die von uns gemessenen Werte für den Chromgehalt im Serum mit Mittelwerten von 28 µg/l deutlich höher als die mittels Neutronenaktivierung ermittelten Normwerte von 9 µg/l (3). In weiteren Voruntersuchungen wurde deshalb zunächst versucht, durch Vorbereitung der Serumproben die störende Matrix zu entfernen und die Spurenelemente anzureichern. Die angewendeten Verfahren sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Mit keiner Methode konnten brauchbare Ergebnisse erzielt werden.

Tab. 1. Voruntersuchungen zum Nachweis von Chrom und Mangan mittels flammenloser Atomabsorption (AAS) in Verbindung mit dem Gerät AAS 290 und der Graphitrohrküvette HGA 70 (\*nach Zugabe von 20 µl jeweils ein Trocknungsschritt)  
p.a. = pro analysi (Reinheitsgrad). Sp = Suprapur (Reinheitsgrad). APDC = Ammonium-Pyrrolidin-Dithiocarbamat.  
MIBK = Methyl-Isobutylketon

		Versuchsansätze						
		1	2	3	4	5	6	7
Probenvorbereitung	Serum [ml]	< 2 ml	1 ml	1 ml	1 ml	5 ml	5 ml	5 ml
	Proteinfällung		+ 1 ml 1 mol/l H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> p.a.	+ 1 ml 20% CCl <sub>3</sub> COOH p.a.	Verdünnung + 1 ml demin. Wasser	+ 2,5 ml konz. HCl Sp.	+ 2,5 ml 20% CCl <sub>3</sub> COOH p.a.	+ 2,5 ml 20% CCl <sub>3</sub> COOH p.a.
	Einengung					5 ml Überstand bei 200° C	5 ml Überstand bei 160° C	5 ml Überstand bei 160° C
	Rückstand: Aufnahme in					0,5 ml konz. HCl Sp.	0,15 ml Phthal- säure + 0,1 ml APDC	1 ml APDC + 1 ml Phthal- säure + 3 ml MIBK → schütteln → zentrifugieren → organ. Phase messen
Probenvolumen		20 µl	50 µl	4 × 20 µl *	20 u. 50 µl	20 µl	20 µl	20 µl
Meßbedingungen der AAS	Programmwahl HGA 70	7 (1100° C)	6 (750° C)	7	7	7	7	6
	Atomisierungs- Spannung [V]	9	9	9	9	9	9	9
	Trocknungs- zeit [s]	60	120	120	60	40	40	40
	Veraschungs- zeit [s]	300	300	300	300	120	120	30
	Atomisierungs- zeit [s]	20	20	20	10	10	10	10
Ergebnis		Unspezifi- sches Rauch- signal	Unspezifi- sches Rauch- signal	Unspezifi- sches Rauch- signal	Unspezifi- sches Rauch- signal	Unspezifi- sches Rauch- signal	Unspezifi- sches Rauch- signal	Unspezifi- sches Rauch- signal

Die Verwendung des Gerätes 300 S AAS bzw. 403 AAS in Kombination mit der Graphitrohrküvette HGA 70 bzw. HGA 72 und dem Deuteriumkompensator

### Die Messung von Chrom (Cr) im Serum

Die Bedingungen für die Messung von Chrom im Serum sind in Tabelle 2 aufgeführt. In Folge des geringen Chromgehaltes im Serum und der geringeren Empfindlichkeit der Chrom-Linie empfiehlt es sich, für den Meßvorgang ein größeres Volumen von 50 µl Serum einzusetzen. Da Serum unmittelbar für die Messung verwendet wird, muß die organische und anorganische Matrix bei der Veraschung vollständig entfernt werden.

Tab. 2. Vorschrift für die flammenlose Atomabsorption

Element: Chrom  
Matrix: Serum

1. Probenvorbehandlung: keine (Verwendung von Serum)
2. Geräte: 403 AAS oder 300 S AAS ohne Deuteriumkompensator
- 2.1. Einstellungen : 403 AAS bzw. 300 S AAS
  - Wellenlänge : 357,9 nm
  - HKL : PE Intensitron
  - Lampenstrom : 25 mAmpere
  - für 403 AAS
  - Absorbance : 0,5 Ampere
  - Dämpfung : 1 (gilt auch für 300 S AAS)
- 2.2. Einstellungen : Graphitrohrküvette HGA 72
  - Stufe I : Trocknung 1 60 s 82° C
  - Stufe II : Trocknung 2 60 s 118° C
  - Temperaturprogramm Rate 5, kontinuierlicher Temperaturanstieg bis 1020° C (Vorveraschung)
  - Stufe III : Endveraschung 90 s 1400° C
  - Stufe IV : Atomisierung 20 s 2474° C
- 2.3. Einstellungen : Schreiber
  - 5 mVolt : Vollausschlag
  - Papiervorschub : 5 s/cm
3. Pipettiervolumen : 50 µl Serum
4. Nachweisgrenze : 12,5 pg (50 µl einer Probe mit 0,25 µg/l)
5. Auswertung
 

Die Auswertung erfolgt von der Basislinie bei Atomisierungsbeginn bis zum Maximalwert. Eine zu starke Basisverschiebung während der Atomisierung wird durch eine Pappblende vor dem rechten Küvettenfenster vermieden.
6. Eichung
 

Die Eichung erfolgt durch Aufstockung der Serumprobe mit Chromkonzentrationen, die im Bereich des zu erwartenden Serumkonzentration liegen. Dabei soll das Serum höchstens um 10 % verdünnt werden.

Empfohlene Eichwerte: 10, 5 und 1 µg/l Chrom

Abbildung 1 zeigt die Optimierung der Veraschungstemperatur für den Nachweis von Chrom im Serum. Bei einer Temperatur von 1400° C sind keine unspezifischen Signale mehr nachweisbar. Dadurch kann auf die Anwendung des die Empfindlichkeit des Meßsystems reduzierenden Deuteriumkompensators zur Unterdrückung unspezifischer Signale verzichtet und die Nachweisgrenze für Chrom im Serum verbessert werden.

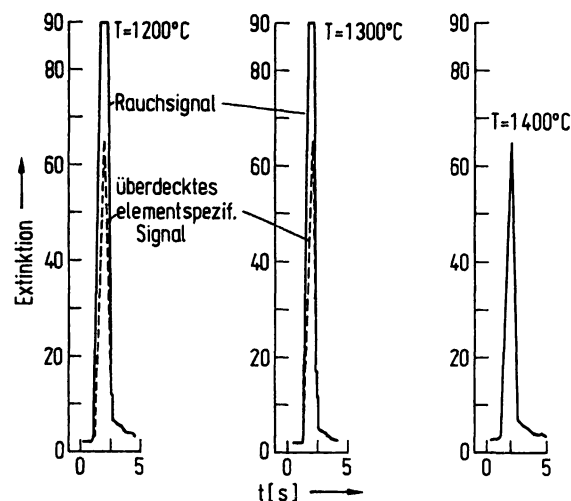


Abb. 1. Die Optimierung der Veraschungstemperatur für den Nachweis von Chrom im Serum mittels flammenloser Atomabsorptionsspektroskopie

Auf der Ordinate ist die Extinktion in willkürlichen Einheiten, auf der Abszisse die Zeit wiedergegeben. Die bei verschiedenen Veraschungstemperaturen erhaltenen Signale sind durch ausgezogene Linien, bei 1200° C und 1300° C das durch Rauch überlagerte elementenspezifische Signal durch gestrichelte Linien gekennzeichnet. Das Vorgehen entspricht den in Tabelle 2 gemachten Angaben, mit Ausnahme der Variation der Veraschungstemperatur von 1200° C–1400° C. Aus der Abbildung geht hervor, daß bei Veraschungstemperaturen von 1200° C–1300° C unspezifische Rauchsignale das elementenspezifische Signal verdecken, das erst bei einer Veraschungstemperatur von 1400° C selektiv nachweisbar ist.

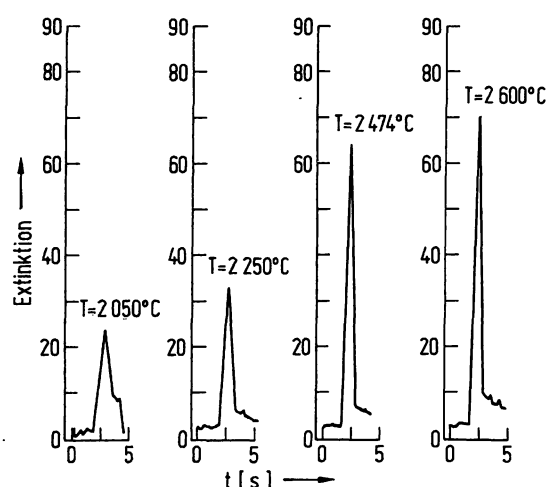


Abb. 2. Die Optimierung der Atomisierungstemperatur für den Nachweis von Chrom im Serum mittels flammenloser Atomabsorptionsspektroskopie

Auf der Ordinate ist die Extinktion in willkürlichen Einheiten, auf der Abszisse die Zeit wiedergegeben. Das Vorgehen entspricht den in Tabelle 2 gemachten Angaben, mit Ausnahme der Atomisierungstemperatur. Mit zunehmender Temperatur ergeben sich höhere elementenspezifische Extinktionswerte. Der günstigste Meßbereich dürfte bei einer Temperatur von 2474° C erreicht sein (s. auch Text).

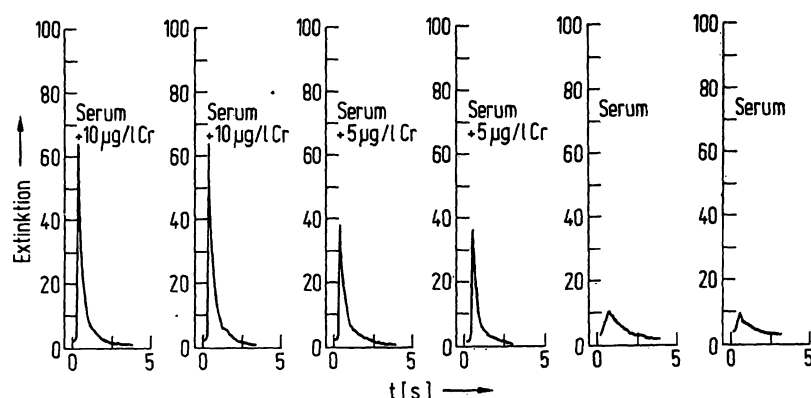


Abb. 3. Originalregistrierungen von Chrom im Serum, sowie von aufgestocktem Serum

Auf der Ordinate ist die Extinktion in willkürlichen Einheiten, auf der Abszisse die Zeit wiedergegeben.

Die Versuchsbedingungen sind in Tabelle 2 angegeben.

Es sind jeweils Doppelbestimmungen angegeben. Von links nach rechts sind aufgezeichnet:

1. Doppelbestimmung mit 10 µg/l Chrom aufgestocktes Serum
2. Doppelbestimmung mit 5 µg/l aufgestocktes Serum
3. Doppelbestimmung: Messung des Chromgehaltes im Nativserum

Von der Extinktion (in Skalenteilen) der aufgestockten Seren ist die Extinktion der Originalprobe zu subtrahieren, um die Extinktion für 10 bzw. 5 µg/l Chrom zu erhalten.

Abbildung 2 zeigt den Nachweis von Chrom im Serum in Abhängigkeit von der Atomisierungstemperatur. Die günstigsten Meßbedingungen dürften bei einer Atomisierungstemperatur von 2474°C erreicht sein, da bei einer geringeren Atomisierungstemperatur die Nachweisgrenze ungünstiger wird. Bei einer Temperatur über 2474°C nimmt als Nachteil die Eigenemission der Graphitrohrküvette deutlich zu, so daß keine Nulllinienkonstanz mehr gegeben ist. Bei einer Atomisierungstemperatur von 2474°C läßt sich die Eigenemission des Graphitrohrs durch Vorschalten einer Lochblende weitgehend eliminieren. Die mit der Atomabsorption erzielten Ergebnisse müssen auf Eichwerte bezogen werden. Diese werden durch Aufstockung von Serum mit Lösungen bekannten Chromgehaltes hergestellt; dabei sollte die Verdünnung des Serums höchstens 10% ausmachen.

Abbildung 3 zeigt eine Originalregistrierung für die Messung von Chrom im Serum. Es sind als Doppelbestimmungen aufgetragen: der Eichwert 10 µg/l, der Eichwert 5 µg/l, und der Meßwert im Serum. Die bei 50 Personen ohne erkennbare Krankheiten gemessenen Werte des Chromgehaltes im Serum sind in Abbildung 6 wiedergegeben. Aus der Abbildung geht hervor, daß die Verteilung des Chromgehaltes im Serum Gesunder als log-normal beschrieben werden kann, mit einem Median von 0,60 µg/l.

Im vorliegenden Kollektiv zeigte das arithmetische Mittel des Chromgehaltes von Serum keinen signifikanten Unterschied ( $p > 0,05$ ) zwischen männlichen ( $\bar{x} = 0,69 \mu\text{g/l}$ ;  $n = 35$ ) und weiblichen ( $\bar{x} = 0,81 \mu\text{g/l}$ ;  $n = 15$ ) Probanden.

Das Alter des untersuchten Kollektivs lag zwischen 18 und 53 Jahren, die gemessenen Serumchromwerte ließen

Tab. 3. Vorschrift für die flammenlose Atomabsorption

Element: Mangan  
Matrix: Serum

1. Probenvorbehandlung: keine (Verwendung von Serum).
2. Geräte: 403 AAS oder 300 S AAS mit Deuteriumkompensator
  - 2.1. Einstellungen : 403 AAS bzw. 300 S AAS
    - Wellenlänge : 279,5 nm
    - HKL : PE Intensitron
    - Lampenstrom : 9 mAmpere
    - Für 403 AAS
    - Absorbance : 0,5 Ampere
    - Dämpfung : 1 (gilt auch für 300 S AAS)
  - 2.2. Einstellungen : Graphitrohrküvette HGA 72
    - Stufe I : Trocknung 1 60 s 82°C
    - Stufe II : Trocknung 2 60 s 118°C
    - Temperaturprogramm: Rate 6 kontinuierlicher Temperaturanstieg bis 1020°C (Vorveraschung)
    - Stufe III : Endveraschung 90 s 1300°C
    - Stufe IV : Atomisierung 20 s 2600°C
- 2.3. Einstellungen : Schreiber
  - 10 mVolt : Vollausschlag
  - Papiervorschub : 5 s/cm
3. Pipettiervolumen : 20 µl Serum
4. Nachweisgrenze : 5 pg (20 µl einer Probe mit 0,25 µg/l)
5. Auswertung
 

Die Auswertung erfolgt von der Basislinie bei Atomisierungsbeginn bis zum Maximalwert. Eine zu starke Basisverschiebung während der Atomisierung wird durch eine Pappblende vor dem rechten Küvettenfenster vermieden.
6. Eichung
 

Die Eichung erfolgt durch Aufstockung der Serumprobe mit Mangankonzentrationen, die im Bereich der zu erwartenden Serumkonzentration liegen. Dabei soll das Serum höchstens um 10% verdünnt werden. Empfohlene Eichwerte: 10, 5 und 1 µg/l Mangan

keine Altersabhängigkeit erkennen. Die Präzision der Messungen innerhalb der gleichen Analysenserie wies einen Variationskoeffizienten von 13% auf. Bei der Bestimmung von Tag zu Tag erhöhte sich der Variationskoeffizient auf 16%.

#### Die Messung von Mangan (Mn) im Serum

Die Bedingungen für die Messung von Mangan im Serum sind in Tabelle 3 wiedergegeben. Da die Mangan-Linie höhere Empfindlichkeit als die Chrom-Linie aufweist, können geringere Probenmengen von 20 µl verwendet werden. Die höhere Empfindlichkeit der Mangan-Linie und die dadurch bedingte bessere Nachweisgrenze zur Mangan-Bestimmung gestattet es ferner, die Messungen unter Verwendung des Deuteriumkompensators durchzuführen. Dies ist im Fall des Mangan-Nachweises auch erforderlich, da Mangan bereits bei einer Temperatur von etwa 1320°C flüchtig wird. Bei der Veraschung dürfen also Temperaturen über 1300°C nicht verwendet werden, obwohl bei dieser Veraschungstemperatur die vollständige Vernichtung der organischen und anorganischen Matrix nicht sichergestellt ist. Die durch die nicht vollständig entfernte Matrix bedingten unspezifischen Signale werden jedoch durch den Deuteriumkompensator vom eigentlichen Meßvorgang ausgeschlossen.

Abbildung 4 zeigt die Optimierung der Veraschungstemperatur. Die günstigsten Bedingungen sind bei 1300°C erreicht. Im vorliegenden Beispiel ist bei dieser Temperatur die gesamte Matrix entfernt.

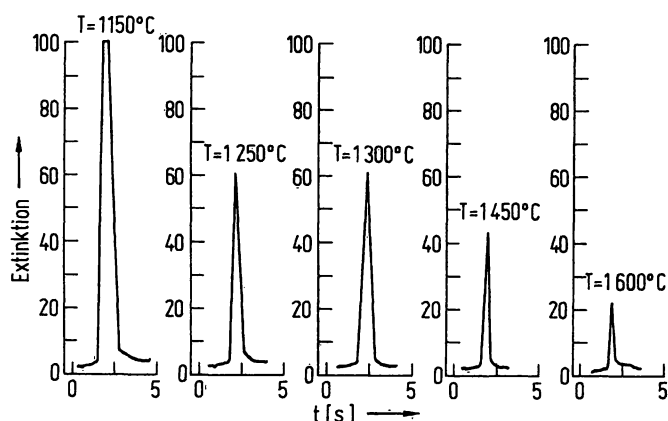


Abb. 4. Die Optimierung der Veraschungstemperatur für den Nachweis von Mangan im Serum mittels flammenloser Atomabsorptionsspektroskopie  
Auf der Ordinate ist die Extinktion in willkürlichen Einheiten, auf der Abszisse die Zeit wiedergegeben. Das Vorgehen entspricht den in Tabelle 3 gemachten Angaben, mit Ausnahme der Variation der Veraschungstemperatur. Bei Temperaturen unter 1250°C wird das erhaltene Signal von der Registrierapparatur nicht vollständig wiedergegeben. Das bei Temperaturen unter 1250°C erhaltene Signal ist hauptsächlich durch Rauch bedingt; durch Überlastung des Deuteriumkompensators konnte dieses unspezifische Signal nicht vollständig eliminiert werden. Bei einer Temperatur von 1450°C bzw. 1600°C nimmt das elementspezifische Signal ab, da bei dieser Temperatur Mangan bereits flüchtig wird. Der günstigste Temperaturbereich für die Veraschung beim Nachweis von Mangan im Serum dürfte demnach bei 1300°C liegen.

Die Optimierung der Atomisierungstemperatur zeigt Abbildung 5. Die günstigsten Meßbedingungen sind bei einer Atomisierungstemperatur von 2600°C erreicht. Bei dieser Temperatur wird die höchste Ausbeute erzielt, die Eigenemission der Graphitrohrküvette muß allerdings durch Vorschalten einer Lochblende herabgesetzt werden.

Abbildung 6 zeigt bei 50 Personen ohne erkennbare Erkrankungen die Serum-Manganwerte, deren Verteilung als log-normal beschrieben werden kann, mit einem Median von 1,58 µg/l.

In dem untersuchten Kollektiv zeigten die bei männlichen (n = 35) und weiblichen Probanden (n = 15) erhaltenen arithmetischen Mittelwerte des Serum-Mangange-

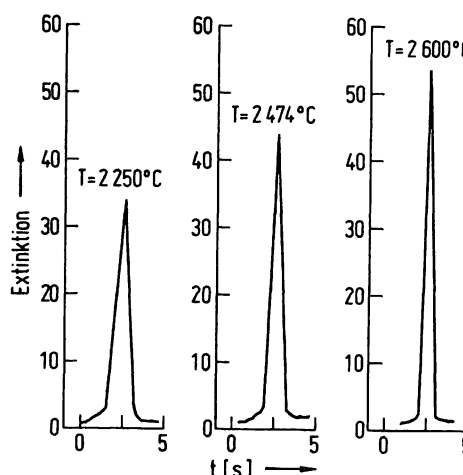


Abb. 5. Die Optimierung der Atomisierungstemperatur für den Nachweis von Mangan im Serum mittels flammenloser Atomabsorptionsspektroskopie

Auf der Ordinate ist die Extinktion in willkürlichen Einheiten, auf der Abszisse die Zeit wiedergegeben. Das Vorgehen entspricht den in Tabelle 3 gemachten Angaben, mit Ausnahme der Atomisierungstemperatur. Mit zunehmender Atomisierungstemperatur ergeben sich höhere elementspezifische Extinktionswerte. Der günstigste Meßbereich dürfte bei einer Temperatur von 2600°C erreicht sein.

haltes mit Werten von 2,01 µg/l bzw. 1,74 µg/l keinen statistisch signifikanten ( $p > 0,05$ ) Unterschied. In dem untersuchten Altersbereich (18–53 Jahre) zeigten die Manganwerte im Serum keine Altersabhängigkeit. Bei der Messung der Manganwerte im Serum innerhalb der Serie wurde ein Variationskoeffizient von 14% bei der Messung von Tag zu Tag ein Variationskoeffizient von 16% ermittelt.

#### Diskussion

Die Spurenelemente liegen im Serum in so geringem Gehalt vor, daß ihr atomabsorptionsspektrometrischer Nachweis nur mit hochempfindlichen Atomabsorptionsgeräten unter Verwendung einer Graphitrohrküvette gelingt. Bei Verwendung des Gerätes 290 AAS mit etwa 10-fach geringerer Nachweisgrenze lassen sich weder Chrom noch Mangan im Serum erfassen. Die Nachweisgrenze läßt sich

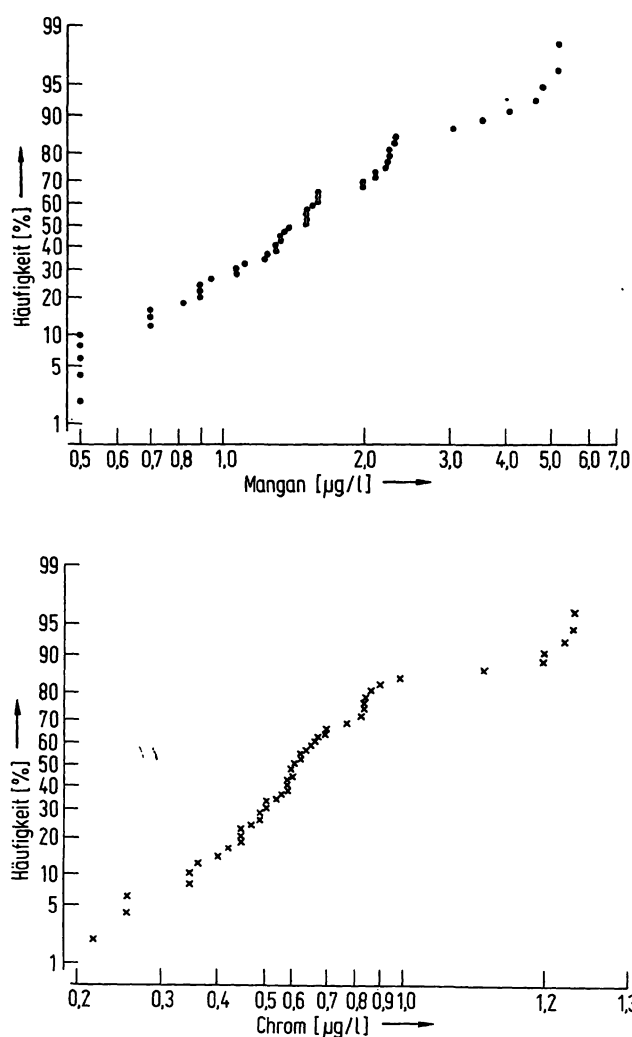


Abb. 6. Die im menschlichen Serum mittels flammenloser Atomabsorptionsspektroskopie ermittelten Werte von Chrom und Mangan bei 27 anscheinend gesunden Personen. Die Werte sind im Wahrscheinlichkeitsnetz nach Logarithmieren der Abszissenweite (Elektrolytgehalt im Serum) dargestellt. Für beide Elemente findet sich für den Serumgehalt eine log-normale Verteilung.

praktisch auch nicht durch Einengen der Proben und Komplexbildung der Elemente verbessern (Tab. 1). Dies dürfte vor allem auf folgende Ursachen zurückzuführen sein:

1. Bei Verwendung von Reagenzien „pro analysi“ ist die Verunreinigung mit den zu messenden Spurenelementen in der Größenordnung des im Serum zu erwartenden Gehaltes, so daß nur die wenigen Reagenzien „Suprapur“ verwendet werden können.
2. Die Einengung der Proben in der Hitze wurde in Glasgefäßen vorgenommen, an deren Wänden die Spurenelemente auf Grund der Polarität adsorbiert und somit dem Nachweis entzogen werden können.
3. Durch Enteiweißung mit anschließender Hitzeeinengung der Proben wird zwar die organische Matrix weitgehend entfernt, die im Serum vorhandenen anorganischen Substanzen bleiben jedoch zum großen Teil

erhalten und können zu unspezifischen Signalen führen.

Die Atomabsorptionsgeräte 300 S AAS und 403 AAS unterscheiden sich in ihrer Empfindlichkeit nicht vom 290 AAS, die Nachweisgrenze ist jedoch bei diesen Geräten im Vergleich zum 290 AAS um etwa den Faktor 10 verbessert.

Die Nachweisgrenze (3) eines Elementes hängt außer vom verwendeten Atomabsorptionsgerät auch von der Art der Graphitrohrküvette ab. Mit der stromregulierten HGA 72<sup>10)</sup> läßt sich die Nachweisgrenze für die meisten Spurenelemente im Serum im Vergleich zur HGA 70 um rund das 2-fache steigern.<sup>11)</sup>

Bei Verwendung hochempfindlicher Atomabsorptionsgeräte (z. B. 300 S AAS oder 403 AAS) mit Graphitrohrküvette (z. B. HGA 72) kann die Serumprobe ohne vorherige chemische Aufbereitung in die Küvette gegeben werden. Durch den Verzicht auf eine chemische Vorbehandlung der Proben wird der Spurenelementgehalt weder durch Adsorption an Glaswände noch durch Zugabe nicht hochgradig reiner Chemikalien verändert. Bei der unmittelbaren Eingabe von Serum in die Küvette ist jedoch die Vermeidung unspezifischer Rauchsignale durch die Matrix von entscheidender Bedeutung. Die Vernichtung der Matrix gelingt im Fall von Chrom durch eine Veraschungstemperatur von 1400°C. Diese hohe Temperatur kann jedoch bei Mangan nicht angewendet werden, da dieses Element ab 1300°C flüchtig wird. Im Fall von Mangan müssen also eventuell auftretende unspezifische Signale durch die Anwendung des Deuteriumkompensators eliminiert werden.

Beim Trocknungs- und Veraschungsvorgang können gleichfalls Fehler beim Nachweis von Spurenelementen auftreten. Durch zu rasches Aufheizen kann die Probe in der Küvette verspritzt werden. Da aber in der Randzone der Küvette geringere Temperaturen erreicht werden als in der Mitte, ist es dann möglich, daß beim Veraschungsvorgang die Matrix nicht vollständig eliminiert wird und dadurch unspezifische Rauchsignale entstehen.

Die durch flammenlose Atomabsorption ermittelten Normwerte für den Chromgehalt des menschlichen Serums betragen: 0,6 µg/l (Median), bzw. 0,73 µg/l (arithmetisches Mittel).

Die Werte liegen somit in der gleichen Größenordnung wie die geringsten von Mertz et al (4) mittels Emissionsspektalanalyse erhaltenen Resultate. Die mittels flammenloser Atomabsorption erhaltenen Werte für den

<sup>10)</sup> Bei Verwendung der HGA 72 zur Messung von Spurenelementen im Serum sollte jedoch auf die Spezialrohre, die vor allem für die Messung in wässrigen Lösungen konzipiert sind, verzichtet werden, da sich in den Winkeln und Ecken des Spezialrohres organische Rückstände ansammeln, die mit weiter zugegebenen Chrom- und Manganionen Carbide bilden können. Die Chrom- und Manganionen vermögen sich so dem Nachweis zum Teil zu entziehen.

<sup>11)</sup> unveröffentlichte Befunde

Chromgehalt des menschlichen Serums sind deutlich geringer als die mittels Neutronenaktivierungsanalyse erhaltenen Resultate, wobei für diese Diskrepanz keine sichere Deutung gegeben werden kann.

Der mittels flammenloser Atomabsorption gemessene Serumgehalt an Chrom weist Extremwerte von 0,23–1,90 µg/l auf, bei der Verwendung der Emissionsspektralanalyse betrug demgegenüber der Extrembereich 1,1–80,0 µg/l. Für die Neutronenaktivierungsanalyse geben K. Kasperek et al (5) eine einfache Standardabweichung für die Serum-Chromwerte von 5,6 µg/l an. Angegeben als Variations-Koeffizient betrug die Präzision für die Messung des Chromgehaltes von Serum in der Serie 13 % und für die Präzision von Tag zu Tag 16 %.

Für den Mangangehalt von Serum wurden mit der flammenlosen Atomabsorption ein Median von 1,58 µg/l und ein arithmetischer Mittelwert von 1,94 µg/l erhalten. Mittels Neutronenaktivierungsanalyse fanden P. Papavasiliou und G. Cotzias (6) einen Mangangehalt im Serum von 2,5 µg/l. Dieser Wert stimmt mit den mittels flammenloser Atomabsorption erhaltenen Resultaten sehr gut überein. Mit der flammenlosen Atomabsorption betragen die Extremwerte für den Mangangehalt im Serum 0,50–7,89 µg/l. Demgegenüber wurden mittels Emissions-

spektralanalyse nach vorheriger Elementanreicherung 0,5–210,0 µg/l gefunden (4). Im Vergleich zu den bisher mitgeteilten Verfahren zur Messung von Spurenelementen im Serum weist also die flammenlose Atomabsorption einen relativ geringen Streubereich auf, sowohl bei der Messung in der Serie als auch bei der Messung von Tag zu Tag.

Die Richtigkeit der Messung ergibt sich theoretisch aus der elementspezifischen Atomabsorption (1), praktisch läßt sie sich in Anbetracht der geringen Serumkonzentrationen nur durch Aufstockungsversuche belegen, wie sie in Abbildung 3 am Beispiel des Chroms dargestellt sind. Im Falle des Mangans konnten entsprechende Ergebnisse belegt werden.

Die flammenlose Atomabsorption weist demnach für die Messung von Spurenelementen folgende Vorteile auf:

1. Die Methode ist einfach durchführbar
2. Der apparative Aufwand ist vertretbar
3. Die Meßergebnisse sind elementspezifisch
4. Der Arbeitsaufwand ist mit 7–8 Minuten je Analyse relativ gering
5. Für die Messung werden geringe Blutmengen benötigt (kleiner als 2 ml)
6. Die Ergebnisse sind gut reproduzierbar.

1. Welz, B. (1973) Atomabsorptionsspektroskopie, Verlag Chemie, Heidelberg
2. Buttgerit, G. (1972), Arbeitsmedizin, Sozialmedizin, Arbeitshygiene 10, 286–292
3. Paschen, K & Spieckermann, P. G. (1970), Deut. Med. Wochenschr. 95, 2577–2581
4. Mertz, D. P., Koschnick, R., Wilk, G., & Pfeilsticker, K. (1968), diese Z. 6, 171–174

5. Kasperek, K., Schicha, H., Siller, V., Feinendegen, L. E. & Höck, A. (1972) Trace element concentrations in human serum; diagnostic implications, presented at I.A.E.A. Symposium on Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences IAEA/SM-157 Bled, Yugoslavia
6. Papavasiliou, P. S. & Cotzias, G. (1961), J. Biol. Chem. 236, 2365–2369

Prof. Dr. W. Kübler  
Klin. Anstalten d. Univ.  
4 Düsseldorf 1  
Moorenstr. 5